



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **10279486 A**(43) Date of publication of application: **20 . 10 . 98**

(51) Int. Cl

A61K 31/715
A61K 31/35
A61K 31/70
A61K 35/74

(21) Application number: **09100966**(22) Date of filing: **02 . 04 . 97**(71) Applicant: **TAIYO KAGAKU CO LTD**

(72) Inventor: **NAGATO YUKIKO**
AOI NOBUYUKI
YAMAZAKI YOSHIBUMI

(54) IMMUNOPOTENTIATIVE COMPOSITION**(57) Abstract:**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an immunopotentiative composition capable of promoting immunological function of mammals including a human, bird and fish, effective for prevention of infectious disease and used for foods and feeds by formulating a degradation product of polysaccharides.

SOLUTION: This composition consists essentially of a degradation product of polysaccharides. Further, the composition preferably contains tannins such as (+)-catechin and (-)-epicatechin, vitamins, saponins, or

a bacteriostatic in combination. The polysaccharides are selected from Cyamopsis Gum, Locust bean gum, tamarind gum, pectin, xanthane gum, pullulan, etc. A daily effective amount of the degradation product of the polysaccharides is 0.01-10 g/kg for mammals and the birds. Further, the daily effective amounts of the tannins, the vitamins, the saponins and the bacteriostatic to be combined with the degradation product are 0.0001-1 g/kg, 0.001-50 mg/kg, 0.0001-1 g/kg and 1×10^3 - 1×10^{10} /kg respectively. The immunopotentiative activities are extremely increased by using the before components in combination.

COPYRIGHT: (C)1998,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-279486

(43) 公開日 平成10年(1998)10月20日

(51) Int.Cl.⁶

A 6 1 K 31/715
31/35
31/70
35/74

識別記号

A B D

F I

A 6 1 K 31/715
31/35
31/70
35/74

A B D

A

審査請求 未請求 請求項の数 8 F D (全 6 頁)

(21) 出願番号

特願平9-100966

(22) 出願日

平成9年(1997)4月2日

(71) 出願人 000204181

太陽化学株式会社

三重県四日市市赤堀新町9番5号

(72) 発明者 長戸 有希子

三重県四日市市赤堀新町9番5号 太陽化学株式会社内

(72) 発明者 青井 暢之

三重県四日市市赤堀新町9番5号 太陽化学株式会社内

(72) 発明者 山崎 義文

三重県四日市市赤堀新町9番5号 太陽化学株式会社内

(54) 【発明の名称】 免疫賦活組成物

(57) 【要約】

【課題】 人を含む哺乳動物、鳥類及び魚類の免疫機能を促進し、感染症の予防に有効な食品または飼料に使用しうる免疫賦活組成物の提供することを目的とする。

【解決手段】 多糖類の分解物を必須成分として含有させることで上記課題を解決する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 多糖類の分解物を必須成分として含有することを特徴とする免疫賦活組成物。

【請求項2】 多糖類の分解物とタンニン類を併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

【請求項3】 タンニン類が(+)ーカテキン、(+)ーガロカテキン、(ー)ーガロカテキンガラート、(ー)ーエピカテキン、(ー)ーエピカテキンガラート、(ー)ーエピガロカテキン、(ー)ーエピガロカテキンガラート、遊離型テアフラビン、テアフラビンモノガラートA、テアフラビンモノガラートBおよびテアフラビンジガラートからなる群より選ばれる一種または二種以上の化合物である請求項2記載の免疫賦活組成物。

【請求項4】 多糖類の分解物とビタミンを併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

【請求項5】 多糖類の分解物とサポニン類を併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

【請求項6】 多糖類の分解物と生菌剤を併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

【請求項7】 多糖類がグアーガム、ローカストビーンガム、タマリンドガム、ペクチン、キサンタンガム、プルランの群より選ばれる一種または二種以上であることを特徴とする請求項1～6いずれか記載の免疫賦活組成物。

【請求項8】 多糖類がグアーガムであることを特徴とする請求項1～6いずれか記載の免疫賦活組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は人を含む哺乳動物、鳥類及び魚類の免疫機能を促進する免疫賦活組成物に関するもので、食品、食品添加物、飼料、飼料添加物に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 人を含む哺乳動物、鳥類及び魚類の疾患または感染症は、免疫機能の低下または免疫機能の不全が主要な原因の一つと考えられる。例えば人の場合、ストレス、栄養障害、高齢化、妊娠等による免疫機能の低下または不全が原因で、呼吸器感染症、敗血症、尿路感染症等の各種感染症を誘発する。また、近年の水畜産業では、コストダウンをはかるため大規模経営、過密飼育が行われる結果、ストレスによる各種感染症が発症しやすくなっている。従来、感染症の対症療法として各種抗生物質の投与が行われているが、抗生物質の継続的投与は耐性菌出現の問題や動物の抗生物質残留の問題等があり、未だこれを解決する有効な手段は見い出されていない。

【0003】 一方、感染症予防の手段としては、宿主の免疫機能を高める方法が種々提案され、例えば免疫賦活物質として、活性乳酸菌、βーカロチン、ビタミンE等の使用が試みられている。しかし、これら免疫賦活物質

の単独投与は消化器官での安定性、吸収性等の面で問題がある。また、安定性を解決するための方法として、ビタミンEを硫酸エステル化剤で処理し水溶化、安定化したビタミンE硫酸エステルを製造する方法（特公昭61-41358号）が提示されているが、免疫賦活の効果については記載されていない。また、哺乳動物の赤血球膜をグルタルアルデヒドで変性させた、水溶性ないし易水分散性の蛋白質、脂質及び多糖類を主成分とする免疫賦活剤（特開平4-187639号）が開示されているが、哺乳動物の赤血球から製造されるため大量製造が困難である。また、食品等の経口投与でその効果を出すには、多量の投与が必要となり、経済性にも問題がある。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、このような状況下、人を含む哺乳動物、鳥類及び魚類の免疫機能を促進し、感染症の予防に有効な食品または飼料に使用しうる免疫賦活組成物の提供を課題とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは上記課題を解決すべく鋭意研究した結果、多糖類の分解物が哺乳動物や鳥類及び魚類の免疫機能を促進する効果を見だし、さらにこれら多糖類の分解物とタンニン類を組み合わせた場合、多糖類の分解物とビタミン類を組み合わせた場合、多糖類の分解物とサポニン類を組み合わせた場合、または多糖類の分解物と生菌剤を組み合わせた場合により優れた免疫賦活効果のあることを見だし本発明を完成するに至った。

【0006】

【発明の実施の形態】 本発明の必須成分である多糖類の分解物とは、グアーガム、ローカストビーンガム、タマリンドガム、ペクチン、キサンタンガム、プルラン等植物由来の多糖類を酵素または酸によって分解したものを指す。具体的には、グアーガム、ローカストビーンガムについてはアスペルギルス属やリゾプス属等の糸状菌に由来する酵素であるガラクトマンナーゼによる分解が好ましく、ペクチンについてはアスペルギルス属糸状菌の生産する酵素であるペクチナーゼによる分解が好ましい。タマリンドガム及びキサンタンガムについては種々の微生物由来のセルラーゼやキシラナーゼによる分解が好ましく、プルランについてはプルラナーゼによる分解が好ましい。

【0007】 また本発明の多糖類の分解物は酵素の反応時間又は酸分解の反応時間を変えることにより任意の分子量にすることができる。多糖類の分解物の好ましい鎖長は多糖類の種類により異なり、特に限定するものではないが、例えば、グアーガムの加水分解物ではマンノース直鎖の鎖長の範囲が好ましくは5～200単位、より好ましくは5～29単位の範囲内に80%以上分布していることがよい。グアーガムの加水分解物の鎖長とは、

本分解物の主鎖であるマンノースの結合している数を指す。それらの測定法は特に限定するものではないが、例えば分解されたグアーガムを水に溶解し、803D型（東ソー（株）製）の高速液体クロマトグラフィーを用い、水を移動相にしてG3000PW（東ソー（株）製）のカラムにてゲル濾過を行い、示差屈折計にて検出することにより測定できる。

【0008】本発明で多糖類の分解物と共に使用するタンニン類は起源、製造等を特に限定するものではないが、緑茶、ウーロン茶または紅茶の水もしくはアルコール抽出物の限外濾過および逆浸透膜処理、または酢酸可溶画分より得られるタンニン類または、柿しぶやりんごのタンニン類または化学合成品等が適宜選択できる。タンニン類をより具体的に例示すると、（+）-カテキン、（+）-ガロカテキン、（-）-ガロカテキンガラート、（-）-エピカテキン、（-）-エピカテキンガラート、（-）-エピガロカテキン、（-）-エピガロカテキンガラート、遊離型テアフラビン、テアフラビンモノガラートA、テアフラビンモノガラートBおよびテアフラビンジガラートが挙げられる。これらのタンニン類は、単独もしくは二種以上の混合物で使用できる。

【0009】本発明で多糖類の分解物と共に使用するビタミン類は特に限定されるものではないが、好ましくは抗酸化性のあるビタミン類であり、ビタミンE、ビタミンC、ビタミンB2、 β -カロチン等が挙げられる。これらのビタミン類は、単独もしくは二種以上の混合物で使用できる。本発明で多糖類の分解物と共に使用するサポニン類は、キラヤサポニン、ユッカサポニン、ビートサポニン、大豆サポニン、茶サポニン、杜中サポニン、オタネニンジンサポニン、サイコサポニン等の植物配糖体であり、これらサポニン類は単独または二種以上の混合物で使用できる。本発明で多糖類の分解物と共に使用する生菌剤は、例示するならば乳酸菌、ユーグレナ菌、酵母、麹菌等であり、単独または二種以上の混合物で使用できる。

【0010】本発明の多糖類の分解物の有効量は、哺乳動物、鳥類に対して1日当たり0.01~10g/体重kg、好ましくは0.05~5g/体重kg、また多糖類の分解物と合わせて用いることのできるタンニン類の有効量は1日当たり0.0001~1.0g/体重kg、好ましくは0.001~0.5g/体重kg、多糖類の分解物とタンニン類の混合比は、6:1~1000:1、好ましくは10:1~50:1である。多糖類の分解物と合わせて用いることのできるビタミン類の有効量は1日当たり0.001~50mg/体重kg、好ましくは0.005~5mg/体重kg、多糖類の分解物とビタミン類の混合比は2:1~1000000:1、好ましくは5:1~100:1である。多糖類の分解物と合わせて用いることのできるサポニン類の有効量は0.0001~1.0g/体重kg、好ましくは0.

001~0.5g/体重kgであり、多糖類の分解物とサポニン類との混合比は6:1~700:1、好ましくは15:1~70:1である。多糖類の分解物と合わせて用いることのできる生菌剤の有効量は1日当たり $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^{10}$ 個/体重kg、好ましくは $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^8$ 個/体重kgである。

【0011】本発明の必須成分である多糖類の分解物に上記タンニン類、ビタミン類、サポニン類、生菌剤を併用することで、免疫賦活効果を相乗的に高めることができる。本発明の免疫賦活組成物は、食品または飼料製造工程中に液状、粉末状、もしくは顆粒状の多糖類の分解物、タンニン類、ビタミン類、サポニン類、生菌剤を添加、混合して、粉末状、スラリー状、ペレット状、もしくはタブレット状等、適宜の形態の製品に加工するか、または食品、飼料に直接添加、混合することによって製造することができる。本発明品の有効成分である多糖類の分解物、タンニン類、ビタミン類、サポニン類、生菌剤の食品または飼料への添加量は上述の有効添加量となるように適宜添加すればよい。また、通常食品、飼料として用いられる素材を混合使用する場合の制限はない。

【0012】本発明における免疫賦活とは、ヒト及び動物本来の免疫機能を高めることを意味する。本発明の動物とは、牛、馬、羊、山羊、豚、犬、猫等の哺乳動物および鶏、あひる、うずら等の鳥類である。以下、本発明を実施例により詳細に説明するが、これにより特に限定されるものではない。

【0013】

【実施例】

実施例1

水900部にクエン酸を加えてpHを3に調整した。これにアスペルギルス由来のガラクトマンナナーゼ0.2部とグアーガム粉末100部を添加混合して40~45℃で24時間酵素反応を行った。反応後90℃、15分間加熱して酵素を失活させた。濾過により不純物を除去し得られた透明な溶液を減圧濃縮した後、噴霧乾燥し本発明品のグアーガム分解物65部が得られた。高速液体クロマトグラフィーで測定した結果、該ガラクトマンナンの糖鎖の80%以上はマンノースの鎖長が50~150単位の範囲内に包含されていた。

【0014】実施例2

同様の方法で、反応時間のみを48時間とすることにより、マンノース直鎖の短い本発明品のグアーガム分解物（マンノース鎖長の80%以上が5~25単位の範囲内に包含される）68部が得られた。

実施例3

水900部にクエン酸を加えてpHを3に調整した。これにアスペルギルス由来のガラクトマンナナーゼ0.2部とローカストビーンガム粉末100部を添加混合して40~45℃で6時間酵素を作用させた。反応後、95℃、15分間加熱して酵素を失活させた。そして濾過に

より不純物を除き、得られた溶液を凍結乾燥し、ローカストビーンガム分解物64部を得た。

【0015】実施例4

実施例1で得られたグアーガム分解物と、タンニン類として緑茶の熱水抽出物の限外濾過膜処理画分を凍結乾燥した粉末を用いて、重量比で19:1となるように混合し本発明品を得た。

実施例5

実施例2で得られたグアーガム分解物と、タンニン類として緑茶の熱水抽出物の酢酸エチル可溶画分を凍結乾燥した粉末を用いて、重量比で19:1となるように混合し本発明品を得た。

【0016】実施例6

実施例2で得られたグアーガム分解物と、タンニン類として緑茶のエタノール抽出物の酢酸エチル可溶画分からさらにカラムクロマトグラフィーを用いて精製した

(一) -エピガカテキンガレート凍結乾燥した粉末を用いて、重量比で19:1となるように混合し本発明品を得た。

実施例7

実施例1で得られたグアーガム分解物と、ビタミンEを用いて、重量比75:1となるように混合し本発明品を得た。

【0017】実施例8

実施例2で得られたグアーガム分解物と、β-カロチンを用いて、重量比19:1となるように混合し本発明品を得た。

実施例9

実施例2で得られたグアーガム分解物と、キラヤサポニン（部分加水分解サポニンとして約10%）を用いて、重量比19:1となるように混合し本発明品を得た。

【0018】実施例10

実施例2で得られたグアーガム分解物と、ユッカサポニン（部分加水分解サポニンとして約60%）を用いて、重量比19:1となるように混合し本発明品を得た。

実施例11

実施例1で得られたグアーガム分解物と、乳酸菌であるストレプトコッカス菌末（ 10^8 個/g含有）を用いて、重量比10:1となるように混合し本発明品を得た。

【0019】実施例12

実施例3で得られたローカストビーンガム分解物と、タンニン類として緑茶の熱水抽出物の酢酸エチル可溶画分を凍結乾燥した粉末を用いて、重量比で19:1となるように混合し本発明品を得た。

実施例13

水溶性食物繊維のプルランをプルラナーゼで処理したプ*

* ルラン分解物と、キラヤサポニン（部分加水分解サポニンとして約10%）を用いて、重量比19:1となるように混合し本発明品を得た。

【0020】実施例14

実施例2で得られたグアーガム分解物と、緑茶の熱水抽出物の酢酸エチル可溶画分を凍結乾燥した粉末およびキラヤサポニン（部分加水分解サポニンとして約10%）を用いて、重量比で18:1:1となるように混合し本発明品を得た。

10 実施例15

実施例2で得られたグアーガム分解物と、緑茶の熱水抽出物の酢酸エチル可溶画分を凍結乾燥した粉末およびβ-カロチンを用いて、重量比で18:1:1となるように混合し本発明品を得た。

【0021】実施例16

実施例2で得られたグアーガム分解物と、緑茶の熱水抽出物の酢酸エチル可溶画分を凍結乾燥した粉末およびストレプトコッカス菌末（ 10^8 個/g含有）を用いて、重量比で17:1:2となるように混合し本発明品を得た。

20

実施例17

実施例2で得られたグアーガム分解物と、キラヤサポニン（部分加水分解サポニンとして約10%）およびβ-カロチンを用いて、重量比で18:1:1となるように混合し本発明品を得た。

【0022】試験例1

6週齢のICR系雄のマウス（8匹/群）に実施例1～17で得た本発明品を1g/kg体重、緑茶の熱水抽出物を0.01g/kg体重、ビタミンEを0.01g/kg体重、キラヤサポニンを0.05g/kg体重、ストレプトコッカス菌末（ 10^8 個/g含有）を0.01g/kg体重となるよう、蒸留水0.5mlに溶解、または懸濁してマウスに1日1回、7日間経口ゾンデで投与した。また、無投与群を対照とした。実験開始7日目にマウスを屠殺し、腹腔内マクロファージ機能を測定した。マクロファージはマウスの腹腔内に一定量の細胞培養用培地を注入し、腹腔をよく洗浄し腹腔内細胞を回収して、各群のマクロファージ数を血球計算板を用いて数えた。計算したマクロファージを培養プレートに1時間、37℃で培養した後、マクロファージを回収した。マクロファージ遊走能は、Boydenチャンバー法で測定した。試験群は各群6匹のマウスを使用した。結果を表1～表2に示す。

40

【0023】

【表1】

実 施 例	腹腔内マクロファージ数
対照群	12
実施例1	18
実施例2	19
実施例3	17
実施例4	25
実施例5	28
実施例6	30
実施例7	29
実施例8	25
実施例9	29
実施例10	28
実施例11	26
実施例12	23
実施例13	22
実施例14	30
実施例15	30
実施例16	32
実施例17	29
緑茶熱水抽出物	15
ビタミンE	14
キラヤサポニン	16
ストレスコッカス菌末	14

【0024】

【表2】

実 施 例	マクロファージ遊走活性
対照群	28
実施例1	35
実施例2	36
実施例3	35
実施例4	44
実施例5	46
実施例6	49
実施例7	42
実施例8	44
実施例9	50
実施例10	49
実施例11	44
実施例12	42
実施例13	49
実施例14	54
実施例15	51
実施例16	50
実施例17	52
緑茶熱水抽出物	32
ビタミン	30
キラヤサポニン	32
ストレスコッカス菌末	30

【0025】表1～表2より、本発明を添加した群では対照群に比べマクロファージ数及びマクロファージ遊走活性が高値を示した。また、多糖類分解物とタンニン類、ビタミン類、サポニン類、生菌剤を併用することにより、マクロファージ機能の活性効果は顕著であった。

試験例2

ICR系雄のマウスに実施例1～17で得た本発明品を

1g/kg体重、緑茶の熱水抽出物を0.01g/kg体重、ビタミンEを0.01g/kg体重、キラヤサポニンを0.05g/kg体重、ストレプトコッカス菌末(10⁸個/g含有)を0.01g/kg体重となるよう、蒸留水0.5mlに溶解又は懸濁してマウスに1日1回ずつ7日間経口ゾンデで投与した。実験開始7日目

50 にマウスの皮下に腫瘍細胞(Sarcoma 180)

を 3×10^6 個移植した。腫瘍細胞移植後、2週間で腫瘍重量を測定し、投与群/対象群%を求め、抑制率を算出した。結果を表3に示す。

【0026】

【表3】

実施例	腫瘍の抑制率
実施例1	45.2
実施例2	52.3
実施例3	43.4
実施例4	57.6
実施例5	62.4
実施例6	70.6
実施例7	60.5
実施例8	62.4
実施例9	70.6
実施例10	70.6
実施例11	62.4
実施例12	62.4
実施例13	57.6
実施例14	92.5
実施例15	87.4
実施例16	83.7
実施例17	88.4
緑茶熱水抽出物	40.3
ビタミンE	38.4
キラヤサポニン	42.2
ストレスコッカス菌末	40.3

【0027】表3より本発明品を添加した全ての群から抑制効果が見られ、また、多糖類分解物にタンニン類、ビタミン類、サポニン類、生菌剤を併用した群ではより効果があった。従って本発明品による免疫賦活による抗腫瘍作用が明らかとなった。

【0028】本発明の実施態様ならびに目的生成物を挙げれば以下の通りである。

- (1) 多糖類の分解物を含有する免疫賦活組成物。
- (2) 多糖類がグアーガムである前記(1)記載の免疫賦活組成物。
- (3) 多糖類がローカストビーンガムである前記(1)記載の免疫賦活組成物。
- (4) 多糖類がキサントガムである前記(1)記載の免疫賦活組成物。
- (5) 多糖類がペクチンである前記(1)記載の免疫賦活組成物。
- (6) 多糖類がプルランである前記(1)記載の免疫賦活組成物。

【0029】(7) 多糖類の分解物が酵素による分解物である前記(1)～(6)いずれか記載の免疫賦活組成物。

(8) 多糖類の分解物が酸による分解物である前記

(1)～(6)いずれか記載の免疫賦活組成物。

* (9) 多糖類の分解物とタンニン類を併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

(10) タンニン類が緑茶の熱水抽出物である前記

(9)記載の免疫賦活組成物。

(11) タンニン類が緑茶の酢酸エチル可溶画分である前記(9)記載の免疫賦活組成物。

【0030】(12) タンニン類が(+)ーカテキン、(+)ーガロカテキン、(ー)ーガロカテキンガラート、(ー)ーエピカテキン、(ー)ーエピカテキンガラート、(ー)ーエピガロカテキン、(ー)ーエピガロカテキンガラート、遊離型テアフラビン、テアフラビンモノガラートA、テアフラビンモノガラートB及びテアフラビジンガラートからなる化合物群より選ばれる一種または二種以上の化合物である前記(9)記載の免疫賦活組成物。

(13) タンニン類が(ー)ーエピガロカテキンガラートである前記(9)記載の免疫賦活組成物。

(14) 多糖類の分解物とビタミン類と併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

(15) ビタミン類が、ビタミンE、ビタミンC、ビタミンB2、β-カロチンより選ばれる一種または二種以上のビタミンである前記(14)記載の免疫賦活組成物。

【0031】(16) 多糖類の分解物とサポニン類と併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

(17) サポニン類がキラヤサポニン、ユッカサポニン、ビートサポニン、大豆サポニン、茶サポニン、杜中茶サポニンより選ばれる一種または二種以上のサポニンである前記(16)記載の免疫賦活組成物。

(18) 多糖類の分解物と生菌剤とを併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

(19) 生菌剤が乳酸菌、ユーグレナ菌、麹菌、酵母より選ばれる一種または二種以上の生菌剤である前記(18)記載の免疫賦活組成物。

(20) 多糖類の分解物とタンニン類とビタミン類とを併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

(21) 多糖類の分解物とタンニン類とサポニン類とを併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

(22) 多糖類の分解物とタンニン類と生菌剤とを併用することを特徴とする免疫賦活組成物。

【0032】

【発明の効果】本発明の免疫賦活組成物は人を含む哺乳動物、鳥類及び魚類に与えることにより免疫機能を促進する。しかも本発明品の有効成分が食品工業で多用されている多糖類の分解物であることからその安全性は極めて高い。また、タンニン類、ビタミン類、サポニン類、生菌剤を多糖類の分解物と併用することによりその免疫賦活効果は極めて高くなり産業上有効である。